

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 30 MAR 2000	
WIPO	PCT

DE 00/232

ESU

Bescheinigung

Frau Dr. Christine Schulze - Garg in Aumühle/Deutschland und Herr Professor Dr. Wolfgang Deppert in Hamburg/Deutschland haben eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Säugetier sowie Verfahren zu seiner Herstellung
und seine Verwendung"

am 28. Januar 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die Anmeldung ist auf die mice & more GmbH & Co KG in Hamburg/Deutschland umgeschrieben worden.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig das Symbol A 01 K 67/00 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 9. März 2000

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Jerofsky

Kennzeichen: 199 03 371.4

Unser Zeichen: M 21 - hu / msl

Säugetier sowie Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Säugetier, in dem ein duktales Karzinom in situ (DCIS) der weiblichen Brustdrüse induziert werden kann. Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines solchen Säugetiers sowie dessen Verwendung zur Untersuchung eines DCIS bzw. seiner Progression zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom, sowie zur Entwicklung von diagnostischen bzw. therapeutischen Mitteln hierfür.

Das Mammakarzinom ist mit einer Häufigkeit von ca. 10 % in der weiblichen Bevölkerung eines der drängenden Gesundheitsprobleme unserer Zeit. Etwa 80 % der Mammakarzinome sind invasive ductale Mammakarzinome. Bei Mammographien werden häufig Mammatumoren vom Typ eines ductalen Karzinoms in situ (DCIS) diagnostiziert. Dieses kennzeichnet sich durch eine nicht-invasive, d.h. die Basalmembran noch nicht durchbrechende, neoplastische Vermehrung von Epithelzellen in das Lumen der ductulo-lobulären Einheit des Milchdrüsensystems. Ein DCIS kann sich zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom entwickeln. Die molekularen Ursachen hierfür sind allerdings nicht bekannt. Ebenso wenig ist eine Vorhersage möglich, ob und wann eine solche Entwicklung eintritt. Als Folge hiervon wird bei der Diagnose eines DCIS der weiblichen Brust meist eine radikale Mastektomie, d.h. vollständige Entfernung der weiblichen Brust und regionärer Lymphknoten, durchgeführt. Schätzungen ergeben allerdings, daß etwa 60 % der radikalen Mastektomien eine Übertherapierung darstellen.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel bereitzustellen, mit dem die molekularen Ursachen eines DCIS, insbesondere seiner Progression zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom, untersucht und gegebenenfalls Wege für eine verlässliche Diagnose bzw. angemessene Therapie aufgezeigt werden können.

Erfindungsgemäß wird dies durch die Gegenstände in den Patentansprüchen erreicht.

Die vorliegende Erfindung beruht auf den Erkenntnissen des Anmelders, daß ein DCIS der weiblichen Brustdrüse in Säugetieren, z.B. Mäusen, induziert werden kann, die ein Onkogen, z.B. die frühe Region von SV40, d.h. das Gen für das SV40 T-Ag enthalten, das durch laktotrope Hormone, wie Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison, aktivierbar ist. Ferner hat er erkannt, daß sich das DCIS zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom entwickeln kann.

Erfindungsgemäß werden die Erkenntnisse des Anmelders genutzt, ein Säugetier mit einem induzierbaren DCIS der weiblichen Brustdrüse bereitzustellen, das ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält. Vorzugsweise kann sich das DCIS zu einem invasiven duktalen Mammakarzinom entwickeln.

Der Ausdruck "DCIS der weiblichen Brustdrüse" weist auf eine nicht-invasive, d.h. die Basalmembran noch nicht durchbrechende, neoplastische Vermehrung von Epithelzellen in das Lumen der ductulo-lobulären Einheit des Milchdrüsensystems hin. Insbesondere zeichnet sich das DCIS durch histologische Merkmale, wie hyperchromatische, pleomorphe, grobschollig strukturierte oder auffällig große Kerne, aus. Ferner kann es eine verschobene Kern-Plasma-Relation oder zahlreiche Mitosefiguren ausweisen. Desweiteren kann sich das DCIS dadurch kennzeichnen, daß sich die Proliferation der Epithelzellen in das Lumen des Ducts als mehrlagige oder siebförmige Auskleidung bzw. als intraluminale Verzweigung oder mikropapillär zeigen. Darüberhinaus kann sich das DCIS durch Nekrosen, Apoptosefiguren, Psammomkörper, d.h. zwiebelschalenartige Kristallisationsprodukte mit Kalkeinlagerungen, im Lumen des Ducts und Verlust der der Basalmembran unterliegenden Myoepithelschicht ausweisen.

Der Ausdruck "laktotrope Hormone" weist auf Hormone hin, die von Säugetieren, z.B. in der Schwangerschaft und/oder Laktationsperiode, ausgeschüttet werden und laktotrop wirken. Beispiele solcher Hormone umfassen Oestrogen,

Prolactin, Insulin und Hydrocortison.

Der Ausdruck "Onkogen" umfaßt jegliche Gene bzw. Teile davon, die eine Zelltransformierende Eigenschaft aufweisen können. Beispiele solcher Gene umfassen erb A, erb B, fos, myc, E6, E7 und die frühe Region von SV40, d.h. das Gen für das SV40 T-Ag, und mutiertes p53. Ferner kann das Onkogen Sequenzen aufweisen, die für ein starkes, d.h. immundominantes, T-Zell-Epitop, z.B. das MHC-I restringierte Epitop n118 des Nucleoproteins des LCM-Virus, kodieren.

Der Ausdruck "durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen" weist darauf hin, daß vorstehendes Onkogen durch laktotrope Hormone aktivierbar ist. Dies kann in verschiedenster Weise erreicht werden. Günstig kann es sein das Onkogen unter die Kontrolle eines Promotors zu stellen, der für ein oder mehrere laktotrope Hormone spezifisch ist. Ein solcher Promotor ist z.B. der "whey acidic protein" (WAP)-Promotor. Seine Spezifität umfaßt die laktotropen Hormone, Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison. Es wird auf nachstehende Ausführungen hinsichtlich der Herstellung eines erfindungsgemäßen Säugetiers verwiesen.

Der Ausdruck "Säugetier" umfaßt jegliche Säugetiere mit Ausnahme des Menschen, die laktotrope Hormone, z.B. in der Schwangerschaft und/oder Laktationsperiode, ausschütten und in denen ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen vorliegen kann. Beispiele solcher Säugetiere umfassen Mäuse, Ratten, Kaninchen, Pferde, Rinder, Schafe, Ziegen, Affen, Schweine, Hunde und Katzen, wobei Mäuse insbesondere genannt werden.

Bevorzugte Säugetiere der vorliegenden Erfindung sind Mäuse, die das Gen für das SV40 T-Ag unter der Kontrolle des WAP-Promotors enthalten. Auch kann das SV40 T-Ag-Gen Sequenzen enthalten, die für ein starkes, d.h. immundominantes, T-Zell-Epitop, z.B. das Epitop n118 des Nucleoproteins des LCM-Virus kodieren, enthalten. Solche Mäuse werden mit WAP-T bzw. WAP-T-NP bezeichnet.

net (vgl. Fig. 1). Besonders bevorzugt sind die Mäuse WAP-T-1, WAP-T-2, WAP-T-10, WAP-T-NP6, WAP-T-NP8 und WAP-T-NP10. Diese Mäuse kennzeichnen sich wie folgt:

WAP-T-1

Diese Mäuse entwickeln durchschnittlich 7 Monate nach Induktion mit laktotropen Hormonen meist multifokale invasive ductale Mammakarzinome. Es ist keine präferentielle Tumorentstehung in einer der Mammae zu beobachten. Invasive Karzinome sind in der Regel tubulär bis papillär differenziert, mit z.T. soliden anaplastischen Anteilen, die auch eine desmoplastische Reaktion zeigen können. Gelegentlich treten Lungenmetastasen auf. Die Mehrzahl der Tiere entwickelt jedoch keine Metastasen und die Primärtumoren wachsen nur langsam. Makroskopisch nicht befallene Mammae zeigen multifokale DCIS. Die meisten DCIS können aufgrund des isomorphen Erscheinungsbildes der Kerne als "low grade" in Analogie zur Klassifizierung humaner DCIS nach NUYS Index eingestuft werden. Komedonekrosen und Psammomkörper werden gelegentlich beobachtet. Die Ausbildung von intraluminalen Verzweigungen ("roman arches" Bildung) kommt dagegen vor (vgl. Fig. 4).

WAP-T-2

Diese Tiere weisen ein hellbraunes Fell auf. Ferner entwickeln sie etwa 6 Monate nach Induktion mit laktotropen Hormonen invasive ductale Mammakarzinome. Differenzierte Mammakarzinome sind vorwiegend tubulär bis lobulär. Anaplastische Mammakarzinome präsentieren sich mit einigen Tumorriesenzenellen. Mikrometastasen in Lymphknoten werden beobachtet. In seltenen Fällen kann es zur Entstehung von Fibrosarkomen ausgehend von der Mamma oder dem Uterus kommen. Die multifokal auftretenden DCIS zeigen mikropapilläre und cribriforme Wachstumsmuster. Auch einlagig ausgekleidete Formen mit Komedonekrose oder Psammomkörpern werden beobachtet. Da sich die Zellkerne meist isomorph präsentieren, können diese DCIS als nicht "high grade" (vgl. vorstehend) bewertet werden (vgl. Fig. 5).

WAP-T-10

Diese Mäuse entwickeln etwa 8 Monate nach Induktion mit laktotropen Hormonen palpierbare ductale Mammakarzinome, die metastasieren können. Es werden sowohl solide und wenig differenzierte Karzinome, die zahlreiche Mitosen aufweisen, als auch tubuläre bis papilläre Formen gefunden. Die untersuchten Metastasen sind papillär differenziert. Die multifokal auftretenden DCIS weisen Komedonekrosen auf und entsprechen aufgrund der Kernmorphologie (Pleomorphie, Hyperchromasie, u.a.) einem "high grade" DCIS (vgl. vorstehend; und Fig. 6).

WAP-T-NP6

Diese Mäuse entwickeln etwa 11 Monate nach mehrfacher Induktion mit laktotropen Hormon palpierbare invasive Karzinome. In seltenen Fällen treten auch hepatozelluläre Adenome sowie Speicheldrüsenadenome auf. Die Mammakarzinome sind vorwiegend tubulär oder papillär differenziert, gelegentlich nur mäßig differenziert mit ausgedehnten Nekrosen und teilweise auch solide. In mammären Lymphknoten treten Mikrometastasen auf. Die Zellkerne der multifokal auftretenden DCIS sind meist unauffällig "low grade" (vgl. vorstehend) und es sind Komedonekrosen vorhanden (vgl. Fig. 7).

WAP-T-NP8

Diese Mäuse entwickeln etwa 5 Monate nach Induktion mit laktotropen Hormonen invasive ductale Karzinome. Es werden sowohl tubulo-papillär differenzierte als auch schlecht differenzierte, solide Tumore gefunden. Tiere mit schlecht differenzierten Tumoren zeigen Lungenmetastasen. Die Lumen umschriebener kleiner invasiver Karzinome und von DCIS sind in einigen Fällen von Granulozyten infiltriert. Gelegentlich treten auch nicht epitheliale Tumoren mammären Ursprungs, z.B. Fibro- und Osteosarkome, sowie infiltrierende histiozytäre Sarkome auf. Die zwischen 15 und 20 Wochen nach Induktion mit laktotropen Hormonen apparenten multifokalen DCIS entsprechen aufgrund der Kernmorphologie einer "high grade" Form (vgl. vorstehend; und Fig. 8).

WAP-T-NP10

Diese Mäuse entwickeln etwa 11 Monate nach mehreren Induktionen mit laktotropen Hormonen ein invasives ductales Mammakarzinom. Diese Karzinome sind häufig tubulär bis papillär differenziert mit soliden und nekrotischen, aber nur mäßig differenzierten Anteilen. Die DCIS präsentieren sich mit isomorphen Kernen (nicht "high grade"; vgl. vorstehend). Es treten DCIS mit mikropapillärem Wachstum sowie Formen mit totalem Verlust der Myoepithelschicht und Psammomkörperbildung auf (vgl. Fig. 9).

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Zellen, die aus dem erfindungsgemäßen Säugetier erhalten werden. Diese Zellen können in jeglicher Form vorliegen, z.B. in einer Primär- oder Langzeit-Kultur.

Ein erfindungsgemäßes Säugetier kann durch übliche Verfahren bereitgestellt werden. Günstig kann ein Verfahren sein, das folgende Schritte umfaßt:

- (a) Einführung einer für ein Onkogen kodierenden DNA in befruchtete Oocyten eines Säugetiers, wobei die DNA unter der Kontrolle eines Promotors steht, der für laktotrope Hormone spezifisch ist,
- (b) Implantierung der Oocyten von (a) in pseudoschwangere Säugetiere, und
- (c) Selektion der in (b) erhaltenen Nachkommen auf die Bildung eines DCIS.

Hinsichtlich der Ausdrücke "Onkogen", "laktotrope Hormone", "Säugetiere" und "DCIS" wird auf vorstehende Ausführungen verwiesen. -

Ferner weist der Ausdruck "pseudoschwangere Säugetiere" auf solche Säugetiere hin, die mit nicht zeugungsfähigen, d.h. serilen oder vasktomierten, männlichen Säugetieren, verpaart worden sind und einen Vaginalpfropfen aufweisen. Es wird auf das nachstehende Beispiel verwiesen.

Der Ausdruck "befruchtete Oocyten" weist auf Oocyten von schwangeren Säugetieren hin, die entleert worden sind. Es wird auf das nachstehende Beispiel

verwiesen.

Der Ausdruck "DNA, die für ein Onkogen kodiert und unter der Kontrolle eines Promotors steht, der für laktotrope Hormone spezifisch ist" betrifft eine in jeglicher Form vorliegende DNA, die diese Eigenschaften aufweist. Die DNA kann als solche oder in Kombination mit einer anderen DNA, z.B. einem Vektor, vorliegen. Ferner kann sie zirkulär oder linear vorliegen. Desweiteren kann sie Sequenzen enthalten, die eine Rekombination mit der DNA des Säugetiers fördern. Darüberhinaus kann sie Sequenzen enthalten, die für ein T-Zell-Epitop, z.B. das MHC I restringierte Epitop n118 des Nukleoproteins des LCM-Virus, kodieren. Eine solche DNA wurde bei der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) als pWAP-T-NP unter DSM 12608 am 22. Dezember 1998 hinterlegt.

Desweiteren kennt der Fachmann Bedingungen und Materialien, um die Schritte (a)-(c) durchzuführen. Hinsichtlich der Selektion in (c) wird er z.B. auf Verfahren zurückgreifen, mit denen die vorstehend erwähnten histologischen Merkmale nachgewiesen werden können.

Mit der vorliegenden Erfindung wird ein Säugetier bereitgestellt, in dem ein DCIS induziert werden kann. Ferner kann sich aus dem DCIS ein invasives ductales Mammarkarzinom entwickeln. Damit können die molekularen Ursachen eines DCIS bzw. seiner Progression zu einem invasiven ductalen Mammarkarzinom untersucht werden. Insbesondere ist es von Vorteil, daß Säugetiere bereitgestellt werden können, die unterschiedlich lange Latenzzeiten bis zur Entwicklung eines DCIS bzw. eines invasiven ductalen Karzinoms aufweisen, wodurch mittels einer vergleichenden Untersuchung eine Korrelation zwischen DCIS-Typ (inklusive der identifizierten molekularen Marker) und Risiko des DCIS hergestellt werden kann. Desweiteren ist es von Vorteil, daß die Rolle des Immunsystems bei der Ausbildung eines DCIS bzw. seiner Progression zu einem invasiven ductalen Mammarkarzinom untersucht werden kann, was durch das Vorliegen eines starken T-Zell-Epitops im Onkogen-Produkt begünstigt wird. Darüber hinaus liefert die

vorliegende Erfindung eine Basis diagnostische Marker zu entwickeln, mit denen einzelne Entwicklungsstufen des DCIS bzw. des invasiven ductalen Karzinoms nachgewiesen und somit Vorhersagen über die Entwicklung des DCIS bzw. seiner Progression getroffen werden können. Desweiteren gibt die vorliegende Erfindung die Möglichkeit, Therapeutika gegen vorstehende Erkrankungen zu entwickeln.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen:




Fig. 1 zeigt eine für die Herstellung einer erfindungsgemäßen Maus verwendete DNA, die für das SV40 T-Ag bzw. ein das n118 Epitop des LCM-Virus enthaltendes SV40 T-Ag (SV40 T-Ag-NP) kodiert. Die DNA wird in linearer Form verwendet und in befruchtete Oocyten injiziert.

Fig. 2 zeigt die Expression von SV40 T-Ag bzw. SV40 T-Ag-NP in der Mammae erfindungsgemäßer Mäuse.


- 
- (a) Nukleäre Expression von SV40 T-AG in den Epithelzellen morphologisch unauffälliger Ductuli 12 Monate nach Induktion der erfindungsgemäßen Maus WAP-T-1.
 - (b) Nukleäre Expression von T-Ag in den Tumorzellen von DCIS 12 Monate nach Induktion der erfindungsgemäßen Maus WAP-T-NP6.

Fig. 3 zeigt Beispiele häufiger Tumorphänotypen von erfindungsgemäßen Mäusen. In Paraffin eingebetete Schnitte, H&E-Färbung:

- (a) Tubulär bis papillär differenziertes invasives ductales Mammakarzinom mit desmoplastischer Reaktion der Maus WAP-T-10.
- (b) Anaplastisches invasives ductales Mammakarzinom mit ausgedehnten Nekrosen der Maus WAP-T-NP8.

- Fig. 4** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-1 ein induziertes DCIS mit relativ unauffälligen Kernen, z.T. mit intraluminaler Verzweigung, Psammomkörpern und Komedonekrose.
- Fig. 5** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-2 ein induziertes DCIS mit mikropapillärem Wachstumsmuster, desmoplastischer Reaktion und entzündlichen Infiltraten, daneben auch ein- bis mehrlagig ausgekleidetes DCIS mit Psammomkörpern und Komedonekrose.
- Fig. 6** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-10 mehrere induzierte DCIS mit hyperchromatischen, pleomorphen Kernen. In der Umgebung sind entzündliche Infiltrate erkennbar.
- Fig. 7** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-NP6 ein induziertes DCIS mit meist unauffälligen Kernen und gelegentlichen Komedonekrosen. Es sind einlagige und lokal mehrlagige Auskleidungen der ductalen Lumen sichtbar.
- Fig. 8** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-NP8 mehrere induzierte DCIS mit pleomorphen, z.T. auffällig großen Kernen und Psammomkörpern.
- Fig. 9** zeigt in der DCIS Maus WAP-T-NP10 ein induziertes DCIS mit relativ isomorphen Kernen und mikropapillärem und z.T. intraluminale Verzweigungen bildendem Wachstumsmuster.

Die Erfindung wird durch das Beispiel erläutert.

Beispiel: Herstellung eines erfindungsgemäßen Säugetiers

Etwa 20 weibliche CB6F1 Mäuse im Alter von 4-5 Wochen werden durch intra peritoneale Injektion von 5 U PMS (pregnant mare's serum) am Tag 1 und eine weitere intra peritoneale Injektion von 5 U hCG (humanes Choriongonadotropin)

am Tag 3 superovuliert und am Abend desselben Tages mit männlichen CB6F1 Tieren verpaart. Am Morgen des 4. Tages werden die Tiere auf das Vorhandensein eines Vaginalpfropfs untersucht, positive Tiere durch zervikale Dislokation getötet und die Ovidukte entnommen. Die Eizellen werden aus den Ovidukten in M2 Medium entleert, die Cumuluszellen durch kurze Inkubation mit Hyaluronidase abgelöst, die Eizellen gründlich gewaschen und bis zur Mikroinjektion in mit Paraffinöl überschichtetem M16 Medium im Brutschrank (5 % CO₂, 85 % Luftfeuchtigkeit, 37°C) aufbewahrt.

Die Injektion der DNA von Fig. 1 erfolgt am 4. Tag in der Regel in den männlichen Vorkern befruchteter Eizellen. Injizierte Eizellen werden anschließend im Brutschrank bis zum Retransfer am darauffolgenden Tag inkubiert. Zur Bereitstellung von pseudoschwangeren Fostermäusen werden am Abend vor der Mikroinjektion etwa 25 weibliche B6CBAF1 Mäuse im Alter von 8 bis 12 Wochen mit vasktomierten männlichen Mäusen verpaart. Am Morgen des 5. Tages werden die Tiere mit Vaginalpfropfen für den Retransfer der injizierten Eizellen ausgewählt. Die über Nacht kultivierten und zum Zweizellstadium proliferierten und mikroinjizierten Eizellen werden am 5. Tag reimplantiert. Dabei werden 10-15 Embryonen in das Infundibulum eines Oviduktes einer narkotisierten Fosterm Maus eingespült. 19-20 Tage nach Retransfer werden die implantierten Embryonen geboren. Es werden die in den Figuren 4-9 gezeigten Mäuse erhalten.

M 4321

Patentansprüche

1. Säugetier mit induzierbarem duktalem Karzinom in situ (DCIS), wobei das Säugetier ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält.
2. Säugetier nach Anspruch 1, wobei sich das DCIS zu invasivem duktalem Mammakarzinom entwickelt.
3. Säugetier nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Onkogen unter der Kontrolle des WAP-Promotors steht.
4. Säugetier nach einem der Ansprüche 1-3, wobei das Onkogen eine für ein starkes T-Zell-Epitop kodierende Sequenz umfaßt.
5. Säugetier nach einem der Ansprüche 1-4, wobei das Onkogen ein für das SV40 T-Ag kodierendes Gen ist.
6. Säugetier nach Anspruch 4 oder 5, wobei die Sequenz für das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus kodiert.
7. Säugetier nach einem der Ansprüche 1-6, wobei die laktotropen Hormone Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison umfassen.
8. Säugetier nach einem der Ansprüche 1-7, wobei das Säugetier jenes der Figuren 4,5,6,7,8 oder 9 ist.
9. Verfahren zur Bereitstellung eines Säugetiers nach einem der Ansprüche 1-8, umfassend die folgenden Schritte:
 - (a) Einführung einer für ein Onkogen kodierenden DNA in befruchtete

Oocyten eines Säugetiers, wobei die DNA unter der Kontrolle eines Promotors steht, der für laktotrope Hormone spezifisch ist,

- (b) Implantierung der Oocyten von (a) in pseudoschwangere Säugetiere, und
 - (c) Selektion der in (b) erhaltenen Nachkommen auf die Bildung eines DCIS.
-
- 10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei sich das DCIS zu invasivem ductalen Mammakarzinom entwickelt.
 - 11. Verfahren nach Anspruch 9 oder 10, wobei der Promotor der WAP-Promotor ist.
 - 12. Verfahren nach einem der Ansprüche 9-11, wobei das Onkogen eine für ein starkes T-Zell-Epitop kodierende Sequenz umfaßt.
 - 13. Verfahren nach einem der Ansprüche 9-12, wobei das Onkogen ein für das SV40 T-Ag kodierende Gen ist.
 - 14. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13, wobei die Sequenz für das n118 Epitop des Nucleoproteins des LCM-Virus kodiert.
 - 15. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 - 14, wobei die laktotropen Hormone Oestrogen, Prolactin, Insulin und Hydrocortison umfassen.
 - 16. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 - 15, wobei die Nachkommen jene der Figuren 4,5,6,7,8 oder 9 sind.
 - 17. Verwendung des Säugetiers nach einem der Ansprüche 1-9 zur Untersuchung von DCIS, seiner Progression zu invasivem ductalen Karzinom und letzterem.

18. Verwendung des Säugetiers nach einem der Ansprüche 1-9 zur Forschung und Entwicklung von diagnostischen Markern und Therapeutika für ein DCIS bzw. ein invasives ductales Karzinom.

M 4321

Zusammenfassung

Säugetier sowie Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Säugetier mit induzierbarem ductalen Karzinom in situ (DCIS), wobei das Säugetier ein durch laktotrope Hormone aktivierbares Onkogen enthält. Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines solchen Säugetiers sowie dessen Verwendung zur Untersuchung eines DCIS bzw. seiner Progression zu einem invasiven ductalen Mammakarzinom, sowie zur Entwicklung von diagnostischen bzw. therapeutischen Mitteln hierfür.

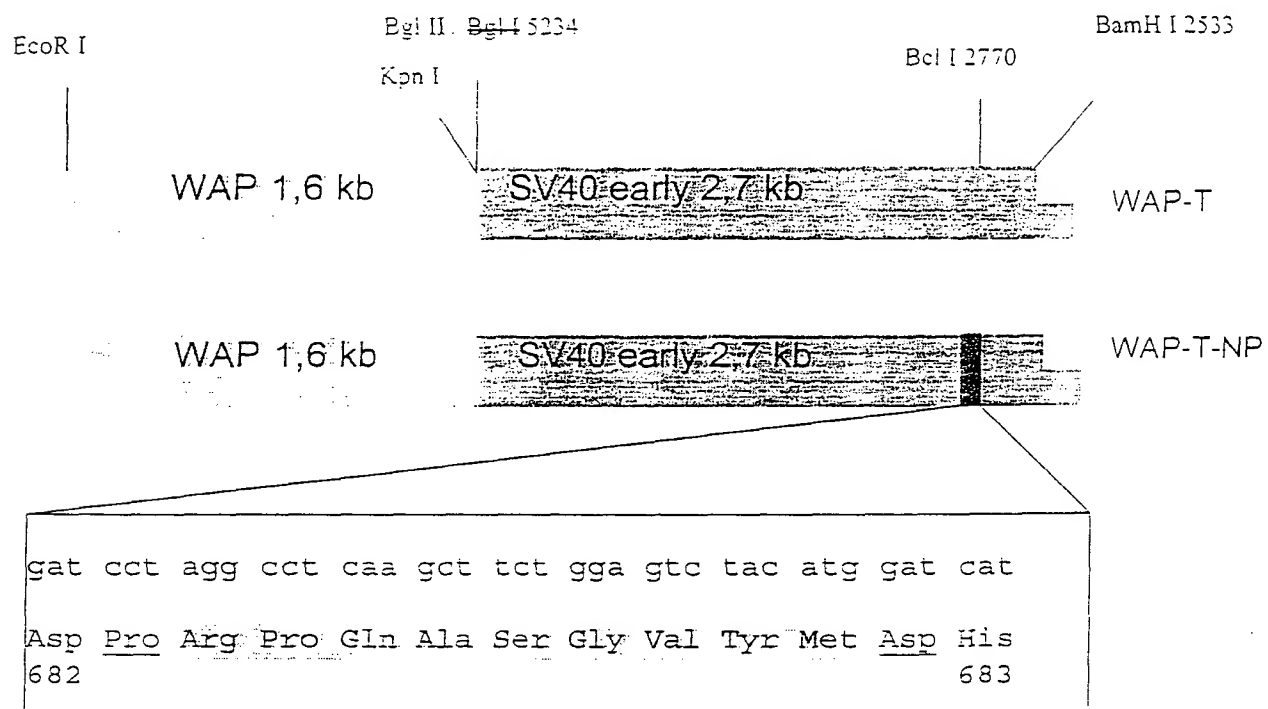


Fig. 1



Fig. 2

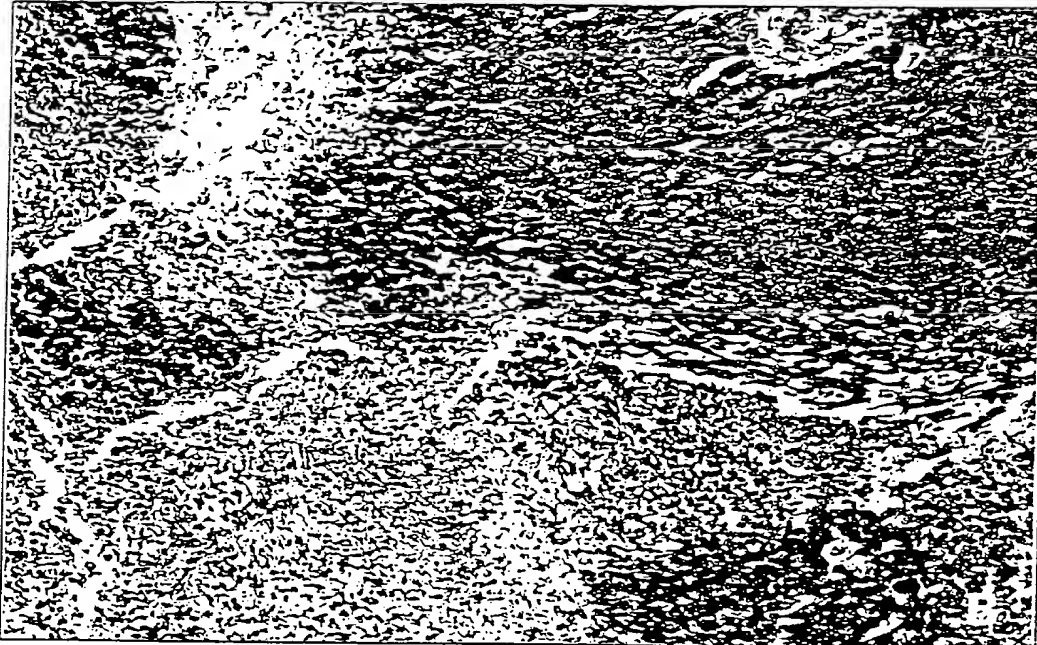
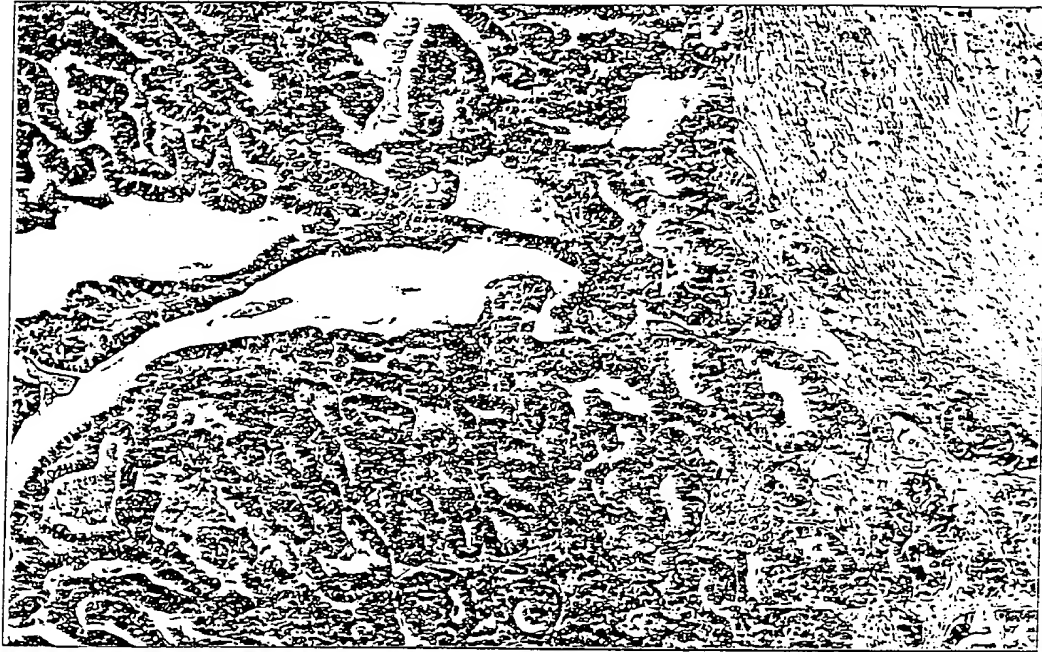


Fig. 3

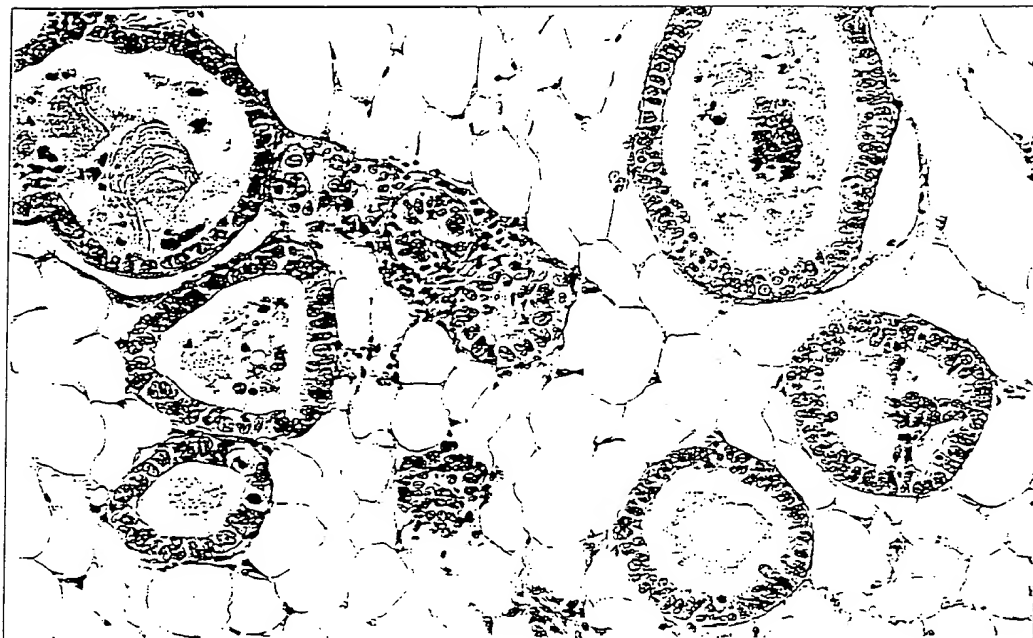


Fig. 4



Fig. 5

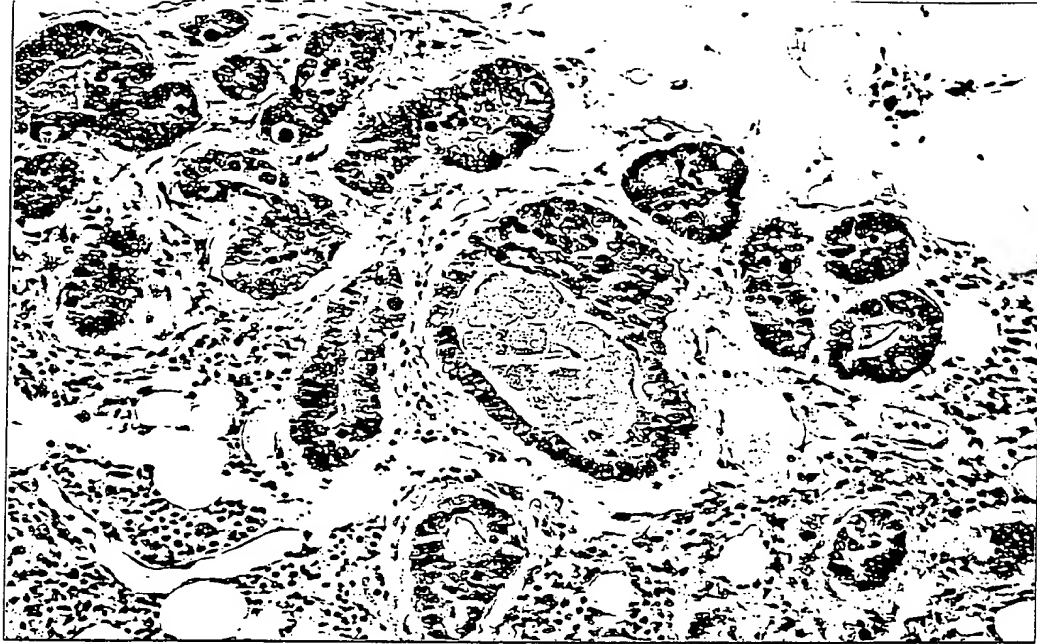


Fig. 6

22

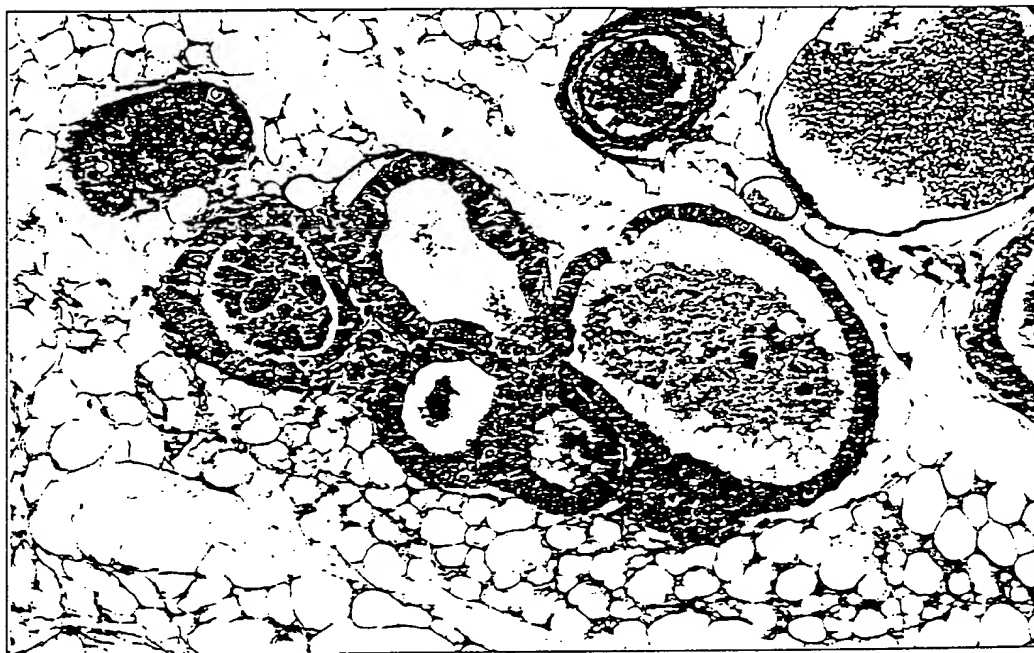


Fig. 7



Fig. 8



Fig. 9